

stimmungen gesteigert werden, für die biologisches Material enteiweißt werden muß. Bei quantitativen Bestimmungen erfordert die Enteiweißung mit denaturierenden Substanzen vor der eigentlichen Reaktion das Abmessen eines Probenaliquots und die Zugabe des Fällungsmittels. Diese beiden quantitativen Schritte, die lange dauern und die Genauigkeit der Bestimmungen mindern, entfallen aber, wenn die Proben diazentriert werden. Die Methode könnte

daher klinisch-chemische Routinelaborarbeiten fühlbar entlasten.

Auch ist es möglich, durch Diazentrieren den Anteil eines Stoffes zu bestimmen, der im Serum oder Liquor fest an Eiweiß gebunden ist. Untersuchungen dieser Art, die wir an der Harnsäure des menschlichen Serums begonnen haben, zeigen, daß die Eiweißbindungskapazität des Blutes für solche Stoffe offenbar ein pathophysiologisches Kriterium mancher Krankheitssyndrome ist.

### Literatur

1. CAMPBELL, W. R. und M. T. HANNA, J. biol. Chemistry 119, 9 (1937). — 2. LORENTZ, K. und H. HOFFMEISTER, Mikrichimica Acta (Wien) 1062 (1966). — 3. BARTHELMAI, W. und R. CZOK, Klin. Wschr. 40, 585 (1962). — 4. MOORE, S. und W. H. STEIN, J. biol. Chemistry 211, 907 (1954). — 5. PFLEIDERER, G. und T. WIELAND, Ann. Acad. Sci. fenn. A II, 60, 381 (1955). — 6. HAMILTON, P. B. und D. D. VAN SLYKE, J. biol. Chemistry 150, 231 (1943). — 7. STEIN, W. H. und S. MOORE, J. biol. Chemistry 211, 915 (1954). — 8. TALLAN, H. H., S. MOORE und W. H. STEIN, J. biol. Chemistry 219, 257 (1956). — 9. Beckman Amino Acid Analyzer Model 120 B Instruction Manual, Part 7—1 (1962). — 10. HAMILTON, P. B. und R. M. ARCHIBALD, Indian Eng. Chem. Anal., Ed. 16, 136 (1944). — 11. PRESCOTT, B. A. und H. WAELSCH, J. biol. Chemistry 167, 855 (1947). — 12. FERRY, J. D., Chem. Revs. 18, 373 (1936). — 13. NICHOLAS, H. O., J. biol. Chemistry 97, 475 (1932). — 14. REHBERG, P. B., Acta Physiol. Scand. 5, 305 (1943). — 15. WAARD, D. J. DE, Arch. néerland. physiol. 2, 530 (1918). — 16. FELDMAN, I., R. A. DANLEY und J. F. O'LEARY, Analytic. Chem. 22, 837 (1950). — 17. TORIBARA, T. Y., Analytic. Chem. 25, 1286 (1953). — 18. SIEGMUND, P., Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin, 1962. — 19. METZNER, H., Naturwissenschaften 14, 388 (1953). — 20. STEKELENBURG, G. J. und J. DESPLANQUE, Technicon Instruments Company Ltd., 4<sup>th</sup> Amino Acid Colloq., London, p. 83 (1966).

Dozent Dr. W. Tarnowski  
2 Hamburg 20, Martinistraße 52

## Vergleichende Untersuchungen über die Antivitamin-B<sub>6</sub>-Wirkung von L- und D-Penicillamin

Von F. KÖRBER, G. HASENBANK und P. SIEGMUND

*Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Schütte)*

(Eingegangen am 22. Juni 1967)

Applikation von täglich 10 mg L- bzw. D-Penicillamin intraperitoneal über drei Wochen führt bei Ratten

1. nach Belastung mit 40 mg Tryptophan zu einer Xanthurensäure-Ausscheidung von 5,7 mg nach L-Penicillamin, von 0,6 mg nach D-Penicillamin gegenüber 0,2 mg bei den Kontrolltieren.
2. zu einer 20proz. Verminderung der Aktivität von Aspartataminotransferase in der Leber nach L-Penicillamin, während nach D-Penicillamin kein Unterschied zu den Kontrolltieren auftritt.
3. zu einer 50proz. Verminderung der Aktivität von Alaninaminotransferase in der Leber nach L-Penicillamin und einer 20proz. Verminderung nach D-Penicillamin.

Rats received 10 mg. of L- or D-penicillamine daily over a period of three weeks.

1. The excretion of xanthurenic acid after loading with 40 mg. tryptophan increased from 0.2 mg. in the control animals to 5.7 mg. after L-penicillamine and 0.6 mg. after D-penicillamine.
2. The aspartate-aminotransferase activity in the liver of L-penicillamine-treated animals was decreased by 20%, while D-penicillamine had no effect.
3. The alanine-aminotransferase activity was decreased by 50% in the liver after treatment with L-penicillamine, and by 20% after D-penicillamine.

In einer Reihe von Arbeiten haben DU VIGNEAUD und Mitarbeiter (1—5) gezeigt, daß dem Futter zugesetztes L-Penicillamin das Wachstum von Ratten hemmt. Die Tiere zeigten Hautsymptome, wie sie bei Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangel auftreten und schieden nach Tryptophanbelastung große Mengen Xanthurensäure aus. Die Transaminaseaktivitäten im Leberhomogenat waren vermindert. Durch Vitamin-B<sub>6</sub>-Gaben konnten diese Wirkungen verhindert werden. Auch für D-Penicillamin, das für die Behandlung der WILSONschen Erkrankung verwendet wird, ist eine Antivitamin-B<sub>6</sub>-Wirkung be-

schrieben worden (6—8). Eine Untersuchung beider Penicillamin-Antipoden unter vergleichbaren Versuchsbedingungen fehlt bisher jedoch.

### Material und Methoden

#### Reagenzien und Referenzsubstanzen

L- und D-Penicillamin erhielten wir von Heyl und Co.<sup>1)</sup>, Berlin. Die Reinheit wurde durch Messung der optischen Drehung im lichtelektrischen Polarimeter (Zeiss), durch SH-Gruppentitration mit

<sup>1)</sup> Wir danken der Firma für die kostenlose Überlassung dieser Substanzen.

p-Chlormercuribenzoat nach (9) und chromatographisch nach vorheriger Oxydation mit Perameisensäure zur Sulfonsäure (10, 11) kontrolliert. Für die Xanthurensäureeichkurve verwendeten wir Xanthurensäure p. a. der Fa. Fluka, Buchs/Schweiz (Vergleichssubstanz für den Nachweis eines Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangels). L-Aminosäuren, Ketosäuren, Coenzyme und Puffersubstanzen für die Enzymbestimmungen waren analysenreine Präparate der Firmen E. Merck, Darmstadt, C. F. Boehringer Söhne, Mannheim und Serva, Heidelberg. Lactat- und Malatdehydrogenase kauften wir bei Fa. C. F. Boehringer Söhne, Mannheim.

#### Apparate

Die photometrischen Messungen wurden mit dem Spektralphotometer PMQ II (Zeiss) und dem Photometer Eppendorf durchgeführt.

#### Tierversuche

Weißes männlichen Wistar-Ratten von etwa 250 g Körpergewicht, die Wasser und käufliches Standardfutter (Altromin R 15) ad libitum erhielten, wurden täglich 10 mg D- bzw. L-Penicillamin in 2 ml 0,9proz. NaCl-Lösung intraperitoneal injiziert. Eine Kontrollgruppe erhielt Futter ebenfalls ad libitum, eine andere jedoch nur 10 g täglich, um eine zu der Versuchsgruppe, die L-Penicillamin erhielt, vergleichbare Gewichtsabnahme zu erzielen. Die Kontrolltiere erhielten täglich 2 ml 0,9proz. NaCl-Lösung intraperitoneal. Das Gewicht der Tiere wurde täglich kontrolliert. Nach drei Wochen mit täglichen Penicillamingaben (bei den hungernden Kontrolltieren, nachdem eine entsprechende Gewichtsabnahme eingetreten war) wurde ein Tryptophanbelastungstest durchgeführt. Dabei erhielt jedes Tier 40 mg Tryptophan intraperitoneal in 4 ml 1proz. Natriumbicarbonat-Lösung. Zur Uringewinnung wurden die Tiere für 24 Stdn. ohne Futter und Flüssigkeitszufuhr in röhrenförmigen Käfigen (12), in denen Kot und Harn getrennt voneinander aufgefangen werden können, gehalten. Der Harn wurde gemessen und die Xanthurensäurekonzentration bestimmt. Danach wurden die Tiere durch Genickschlag getötet, die Lebern sofort entnommen und in eiskalte 1proz. KCl-Lösung gebracht. Gewebeproben von etwa 1 g wurden auf 50 mg genau gewogen und in der Kühlkammer (+ 2°) mit der 9fachen Menge mit Triäthanolamin (0,01M, pH 7,4) gepufferter, 1proz. KCl-Lösung, die 0,5 mMol/l EDTA enthielt, versetzt, und im Homogenisator nach POTTER-ELVEHJEM unter Eiskühlung homogenisiert. In den Leberhomogenaten wurden die Aktivitäten von Aspartat- und Alaninaminotransferase<sup>2)</sup> bestimmt.

#### Bestimmung von Xanthurensäure nach (13)

Der während 24 Stdn. ausgeschiedene Rattenharn wurde zentrifugiert und jeweils 1 ml des Zentrifugats mit 4 ml bidest. Wasser und 5 ml 0,4M Trispuffer (pH 7,8), der 0,4 Mol/l Maleinat enthielt, versetzt. 5 ml dieser Lösung wurden mit 50 µl einer 1,7proz. Eisenammoniumsulfatlösung (12-Hydrat) versetzt. Die Extinktion wurde nach 5 Min. bei 610 nm in 1 cm OS-Küvetten gegen die restliche Mischung (ohne Eisen) gemessen. Die der Extinktion entsprechende Xanthurensäuremenge wurde der Eichkurve entnommen.

Zur Anfertigung der Eichkurve wurden 10,0 mg Xanthurensäure mit Äthanol und wenig 1N Ammoniak in Lösung gebracht und mit Äthanol auf 25,0 ml aufgefüllt. Durch entsprechende Verdünnung mit 5proz. Äthanol wurden die gewünschten Konzentrationen hergestellt und mit diesen die Farbreaktion wie oben durchgeführt.

<sup>2)</sup> Der Trivialname Aspartataminotransferase wird hier gebraucht für das Enzym L-Aspartat: 2-Oxo-glutarat Aminotransferase (EC 2.6.1.1); Alaninaminotransferase für L-Alanin: 2-Oxo-glutarat Aminotransferase (EC 2.6.1.2); L-Kynureninaminotransferase für L-Kynurenin: 2-Oxoglutarat Aminotransferase (EC 2.6.1.7); 3-Hydroxykynureninaminotransferase für 3-Hydroxykynurenin: 2-Oxoglutarat Aminotransferase (EC 2.6.1.1); Lactatdehydrogenase für L-Lactat: NAD Oxydoreductase (EC 1.1.1.27); Malatdehydrogenase für L-Malat: NAD Oxydoreductase (EC 1.1.1.37).

#### Bestimmung der Aktivitäten von Aspartat- und Alaninaminotransferase in Anlehnung an (14)

Nach Vorinkubation von 100 µl Rattenleberhomogenat mit 0,9 ml 0,1M Triäthanolamin-Puffer (pH 7,4) und 0,5 ml 0,06M L-Asparaginsäure bzw. L-Alanin für 5 Min. bei 25° wurde die Transaminase-reaktion durch Zugabe von 0,5 ml 0,06M α-Ketoglutarinsäure gestartet und für weitere 10 Min. bei 25° inkubiert. Die Reaktion wurde durch Zusatz von 2 ml 0,6M Perchlorsäure beendet; nach 10 Min. wurde zentrifugiert und 2 ml des Zentrifugats mit 2 ml 0,3M KHCO<sub>3</sub>-Lösung neutralisiert. Das ausgefallene Kaliumperchlorat wurde in der Kühlkammer abfiltriert und in 2 ml des Filtrats Oxalacetat bzw. Pyruvat bestimmt. Bei den Leerwerten wurde statt der Substratlösungen ein entsprechendes Volumen Pufferlösung zugesetzt.

Die Bestimmung von Oxalessigsäure und Brenztraubensäure erfolgte im optischen Test nach (15) bzw. (16). Zu 2 ml Filtrat (entsprechend 2,5 mg Leber) wurden in 1 cm OS-Küvetten 1 ml 0,4M Triäthanolamin-Puffer (pH 7,6), der 0,04 Mol/l EDTA enthielt, und 40 µl NADH (14 mg/ml) gegeben. Nach Bestimmung der Anfangsextinktion wurde mit 20 µl Malatdehydrogenase (0,5 mg/ml) bzw. 20 µl Lactatdehydrogenase (2 mg/ml) gestartet und die Extinktionsdifferenz bei 366 nm ermittelt.

Die Leerwerte ergaben dabei Extinktionsdifferenzen unter 0,02, so daß sie unberücksichtigt bleiben konnten.

## Ergebnisse

### Körpergewicht

Die Ratten, die L-Penicillamin erhielten, hatten während der Versuchsperiode im Mittel einen Gewichtsverlust von 10 g, während die Tiere, die D-Penicillamin erhielten, 4,5 g und die Kontrollen 12 g zunahmen (Tab. 1). Von 17 Ratten, die L-Penicillamin erhielten, starben 7 während der Versuchszeit innerhalb der ersten 10 Tage, wobei sie im Mittel 24 g an Gewicht verloren hatten. Die Ratten, die D-Penicillamin erhielten, und die Kontrollen erlebten alle das Ende der dreiwöchigen Versuchsperiode.

### Xanthurensäure-Ausscheidung nach Tryptophanbelastung

Die Kontrollen zeigen nach Tryptophanbelastung eine mittlere Xanthurensäure-Ausscheidung (Tab. 2) von 210 µg/24 Stdn. Sie wird durch Verminderung des Körpergewichts infolge reduzierter Kost nicht beeinflusst (220 µg/24 Stdn.). Die Xanthurensäure-Ausscheidung der Tiere, die D-Penicillamin erhielten, betrug 810 µg/24 Stdn. Der Unterschied ist signifikant ( $p < 0,01$ ). Ungleich größere Mengen Xanthurensäure (im Mittel 5,9 mg/24 Stdn.) wurden von den Ratten nach L-Penicillamin-Gaben ausgeschieden. Diese Zahlenwerte entsprechen denen von KUCHINSKAS und Mitarb. (3). Bei einer Ratte, die L-Penicillamin erhalten hatte, war die Xanthurensäureausscheidung nicht erhöht. Da intraperitoneale Injektionen in etwa 20% der Fälle fehl-injiziert werden (17), kann eine ungenügende Tryptophanresorption z. B. aus Verdauungstrakt oder Blase dieses Ergebnis bedingen.

### Aktivität der Aspartataminotransferase in der Leber

Die Aktivität von Aspartataminotransferase (Tab. 3) ist nur nach Gaben von L-Penicillamin signifikant vermindert, sie beträgt dann im Mittel 12,91 U/g Frischgewicht, während nach D-Penicillamin die gleichen Aktivitäten wie bei den Kontrolltieren gefunden werden (im Mittel 16,44 bzw. 16,85 U/g Frischgewicht).

Tab. 1  
Körpergewichte der Ratten

	I Kontrolle (Futter nach Belieben)	II Kontrolle (Futter reduziert)	III D-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)	IV L-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)
Anzahl der Versuchstiere	8	7	10	10
mittleres Anfangsgewicht (g)	249,0	248,6	256,2	265,7
mittleres Endgewicht (g)	261,0	229,3	260,7	255,9
mittlere Differenz (g)	+ 12,0 ± 1,6	- 19,3 ± 1,3	+ 4,5 ± 3,2	- 9,8 ± 2,6

Tab. 2  
Xanthurensäure-Ausscheidung der Ratten im 24-Stdn.-Harn nach Belastung mit 40 mg Tryptophan intraperitoneal

	I Kontrolle (Futtern nach Belieben)	II Kontrolle (Futter reduziert)	III D-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)	IV L-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)
Anzahl der Versuchstiere	10	7	10	10
Mittelwerte (mg)	0,21 ± 0,04	0,22 ± 0,02	0,81 ± 0,07 p gegen I < 0,01	5,90 ± 1,14 p gegen I u. III < 0,01

Tab. 3  
Transaminaseaktivität in den Lebern der Ratten

	I Kontrolle (Futter nach Belieben)	II Kontrolle (Futter reduziert)	III D-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)	IV L-Penicillamin (21 Tage, 10 mg tgl.)
Aspartataminotransferase				
Anzahl der Versuchstiere	10	7	10	10
Mittelwerte (U/g Frischgewicht)	16,85 ± 1,11	21,92 ± 1,07	16,44 ± 0,72	12,91 ± 0,83 p gegen I u. III < 0,02 k <sup>1)</sup> gegen I u. III 2,8 bzw. 3,2
Alaninaminotransferase				
Anzahl der Versuchstiere	10	7	10	10
Mittelwerte (U/g Frischgewicht)	16,01 ± 0,88	18,16 ± 0,76	13,63 ± 0,82 p gegen I < 0,1 k gegen I 2,0	8,65 ± 1,09 p gegen I u. III < 0,01 k gegen I u. III 5,3 bzw. 3,7

<sup>1)</sup> k wurde nach der Formel  $k = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\epsilon_1^2 + \epsilon_2^2}}$  berechnet. M = Mittelwert;  $\epsilon$  = mittlere Abweichung des Mittelwertes

#### Aktivität der Alaninaminotransferase in der Leber

Die Aktivität von Alaninaminotransferase (Tab. 3) ist auch nach Gaben von D-Penicillamin (im Mittel 13,63 U/g Frischgewicht) gegenüber den Kontrollen (im Mittel 16,01 U/g Frischgewicht) etwas vermindert ( $p < 0,1$ ). Nach L-Penicillamin ist die Alaninaminotransferase-Aktivität mit im Mittel 8,65 U/g Frischgewicht erheblich vermindert ( $p < 0,01$ ). Sie ist auch gegenüber den Tieren, die D-Penicillamin erhielten, signifikant erniedrigt ( $p < 0,01$ ). Die Zahlenwerte für die Kontrolltiere entsprechen den Befunden anderer Autoren (18–20).

#### Diskussion

Nach diesen Ergebnissen bestehen also ganz wesentliche Unterschiede in der Antivitamin-B<sub>6</sub>-Wirkung der beiden Antipoden von Penicillamin. Das ist besonders deswegen bemerkenswert, da beide Penicillamine mit dem vom Vitamin B<sub>6</sub> hergeleiteten Coenzym, dem Pyridoxalphosphat, gleich schnell zu Thiazolidinen reagieren (21, 22). Auch bei den Wirkungen der Penicillamine, die nicht als Antivitamin-B<sub>6</sub>-Wirkung aufgefaßt werden können, bestehen Unterschiede zwischen den Antipoden. Diese sind jedoch nicht Gegenstand unserer Untersuchungen.

HEDDLE und Mitarb. (23) wiesen darauf hin, daß die toxischen Wirkungen von L-Penicillamin durch Vitamin-B<sub>6</sub>-Zulagen nicht vollständig verhindert oder aufgehoben werden können. WACKER und Mitarb. (24) fanden, daß L-Penicillamin im Gegensatz zur D-Form bei der zellfreien Proteinsynthese in Proteine eingebaut werden kann. Unterschiede einer unspezifischen toxischen Wirkung können so gedeutet werden.

Daß tatsächlich eine spezifische Antivitamin-Wirkung besteht und eine solche nicht als Folge der bei L-Penicillamingaben beobachteten Gewichtsabnahme der Versuchstiere vorgetäuscht wird, zeigen auch die Versuche mit den Tieren, die infolge reduzierten Futterangebots in 5 Tagen im Mittel 20 g abgenommen hatten, aber nach Tryptophanbelastung normale Xanthurensäure-Ausscheidung zeigten. Die Transaminaseaktivitäten in der Leber waren bei diesen Tieren sogar gesteigert. Eine Erhöhung von Transaminaseaktivitäten bei Hungertieren wurde beschrieben (19) und als Folge einer katabolen Stoffwechsellaage angesehen (25).

Die erhöhte Xanthurensäure-Ausscheidung nach Tryptophanbelastung zeigt eine unterschiedliche Empfindlichkeit der am Tryptophanstoffwechsel beteiligten von Pyridoxalphosphat abhängigen Enzyme gegenüber Penicillamin an. Diese entspricht dem Verhalten dieser Enzyme bei Pyridoxin-Mangel (26). Die Aktivitätsminderung von Enzymen, die Reaktionen katalysieren, die auf dem Wege vom Tryptophan zur Anthranilsäure, 3-Hydroxyanthranilsäure und Nicotinsäureamid liegen, sowie der L-Kynureninaminotransferase, deren Aktivität für die Bildung von Kynurensäure entscheidend ist, muß wesentlich stärker sein als die von 3-Hydroxykynureninaminotransferase, deren Wirkung zur Bildung von Xanthurensäure führt. Der Tryptophanbelastungstest ist also ein Maß für die relative Hemmung verschiedener Pyridoxalphosphat-abhängiger Enzyme des Tryptophanstoffwechsels (27–29).

Einen großen Unterschied der Empfindlichkeit verschiedener Pyridoxalphosphat-Enzyme gegen die Penicill-

amin-Antipoden zeigen auch die Transaminasebestimmungen in der Leber. Während die Konzentration der Aspartataminotransferase in der Leber durch D-Penicillamin gar nicht, durch L-Penicillamin nur geringfügig vermindert wird, ist die Konzentration der Alaninaminotransferase auch nach D-Penicillamin vermindert (20%) und wird durch L-Penicillamin erheblich gesenkt (50%).

Über vergleichende Untersuchungen der Wirkung der Penicillaminantipoden und ihrer Kondensationsprodukte mit Pyridoxalphosphat auf isolierte Enzyme werden wir in einer weiteren Mitteilung berichten (30).

Fraülein Brigitte Clemens (†) danken wir für ihre stets zuverlässige technische Assistenz.

### Literatur

1. WILSON, J. E. und V. DU VIGNEAUD, Science (New York) 107, 635 (1948). — 2. WILSON, J. E. und V. DU VIGNEAUD, J. biol. Chemistry 184, 63 (1950). — 3. KUCHINSKAS, E. J. und V. DU VIGNEAUD, Arch. Biochem. Biophysics 66, 1 (1957). — 4. KUCHINSKAS, E. J., A. HORVATH und V. DU VIGNEAUD, Arch. Biochem. Biophysics 68, 69 (1957). — 5. DU VIGNEAUD, V., E. J. KUCHINSKAS und A. HORVATH, Arch. Biochem. Biophysics 69, 130 (1957). — 6. ASATOOR, A. M., Nature (London) 203, 1382 (1964). — 7. JAFFE, I. A., K. ALTMAN und P. MERRYMAN, J. Clin. Invest. 43, 1869 (1964). — 8. GIBBS, K. und J. M. WALSHE, Lancet (London) I, 175 (1966). — 9. BENESCH, R. und R. E. BENESCH, Determination of -SH Groups in Proteins; in: Methods of Biochemical Analysis, Bd. X, S. 43. Hrsg. D. Glick, Interscience Publishers, Inc. New York-London (1962); BOYER, P. D., J. Amer. chem. Soc. 76, 4331 (1954). — 10. SCHLOSSMANN, K., J. BRÜGGEMANN und F. LYNEN, Biochem. Z. 336, 258 (1962). — 11. TOENNIES, G. und R. P. HOMILLER, J. Amer. chem. Soc. 64, 3054 (1942). — 12. HERKEN, H., G. SENFT und H. WILUTZKY, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 229, 123 (1956). — 13. WACHSTEIN, M. und A. GUDAITIS, Amer. J. Clin. Path. 22, 652 (1952). — 14. WEBER, F. und O. WISS, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 331, 124 (1963). — 15. HOHORST, H.-J. und M. REIM, Oxalacetat, in: Methoden der enzymatischen Analyse, Hrsg. H.-U. Bergmeyer, S. 535, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1962). — 16. BÜCHER, TH., R. CZOK, W. LAMPRECHT und E. LATZKO, Pyruvat, in: Methoden der enzymatischen Analyse, Hrsg. H.-U. Bergmeyer, S. 253, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr. (1962). — 17. LEWIS, R. E., A. L. KUNZ und R. E. BELL, Laborat. Animal Care 16, 505 (1966). — 18. PERSSON, B. H., Acta Soc. med. Upsal. 65, 96 (1960). — 19. THIELE, V. F. und M. BRIN, J. Nutrit. 90, 347 (1966). — 20. CHATTERJEE, A. K., S. C. JAMDAR und B. B. GHOSH, Experientia, Basel 22, 794 (1966). — 21. SIEGMUND, P., diese Z. 1, 97 (1963). — 22. SIEGMUND, P., F. KÖRBER und G. HASENBANK, diese Z. 4, 307 (1966). — 23. HEDDLE, J. G., E. W. MCHENRY und G. H. BEATON, Canad. J. Biochem. 41, 1215 (1963). — 24. WACKER, A., P. CHANDRA und E. HEYL, Arzneimittel-Forsch., Aulendorf 16, 825 (1966). — 25. ROTZSCH, W., Acta biol. med. german. 16, 329 (1966). — 26. KÖRNER, W. F. und H. NOWAK, Int. Z. Vitaminforsch. 36, 264 (1966). — 27. HUGHES, P. A. M. und D. N. RAINE, Clin. chimica Acta (Amsterdam) 14, 399 (1966). — 28. COON, W. W., Amer. J. Clin. Path. 46, 345 (1966). — 29. KÖRNER, W. F. und H. NOWAK, Int. Z. Vitaminforsch. 37, 89 (1967). — 30. HASENBANK, G., F. KÖRBER und P. SIEGMUND, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. im Druck und in Vorbereitung.

Privat-Dozent Dr. P. Siegmund  
1 Berlin 33, Arnimallee 22

## Über die Mg-Aufnahme in Erythrocyten und Ascites-Tumorzellen

Von H. EBEL und TH. GÜNTHER

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin (Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Schütte)

(Eingegangen am 20. Juli 1967)

An glykolysierenden Menschenerythrocyten, atmenden Vogelerythrocyten und glykolysierenden und atmenden Ascites-Tumorzellen wurde die Mg-Aufnahme bei einer auf 6 bis 7 mMol/l erhöhten extrazellulären Mg-Konzentration untersucht.

Alle untersuchten Zellen nehmen mit 1,5 mMol/l Zellen gleichviel Mg auf.

Die Mg-Aufnahme ist nicht durch einfache Diffusion bedingt und setzt sich aus Adsorption an die Zelloberfläche und stoffwechselabhängiger Mg-Aufnahme in die Zelle zusammen.

Die Mg-Aufnahme wird durch Glucose und Phosphat gefördert und durch Phlorrhizin und Arsenat gehemmt.

Die Mg-Aufnahme ist ATP-abhängig und wird durch Strophanthin-g gehemmt.

Steigende Na<sup>+</sup>-Konzentrationen fördern die Mg-Aufnahme bis zu einem Maximum bei physiologischen Na<sup>+</sup>-Konzentrationen. Bei physiologischer Na<sup>+</sup>-Konzentration liegt das Maximum der die Mg-Aufnahme fördernden K<sup>+</sup>-Konzentration bei 7,5 mMol/l; höhere K<sup>+</sup>-Konzentrationen wirken hemmend.

Es wird diskutiert, daß die membrangebundene Mg<sup>2+</sup>-Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase an der Mg-Aufnahme beteiligt ist.

The uptake of Mg by glycolysing human erythrocytes, respiring bird erythrocytes, and glycolysing and respiring Ascites tumor cells was studied at increased levels (6–7 mM) of extracellular Mg.

In all the cells, the uptake of Mg was the same, i. e., 1.5 mmoles/l cells.

The uptake of Mg is not the result of simple diffusion; it is due to the combined effects of adsorption onto the cell surface and the metabolic-dependent uptake of Mg into the cell.

The uptake of Mg is promoted by glucose and phosphate and inhibited by phlorrhizin and arsenate.

The uptake of Mg is ATP-dependent and is inhibited by strophanthin-g.

Increasing concentrations of Na<sup>+</sup> promote the uptake of Mg to a maximum corresponding to the physiological concentration of Na<sup>+</sup>. At physiological concentrations of Na<sup>+</sup>, the optimum concentration of K<sup>+</sup> for the promotion of Mg-uptake was 7.5 mM; higher concentrations of K<sup>+</sup> were inhibitory.

It is suggested that the membrane-bound Mg<sup>2+</sup>-Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase is involved in the uptake of Mg.